

Identification de gènes candidats impliqués dans les processus de résistance de l'hévéa à *Microcyclus ulei* par la technique de macroarrays

Angélique Berger¹, Marine Déon², Fabien Doaré³, Eric Goujon², Dominique Garcia⁴, Marc Seguin¹, Valérie Pujade-Renaud²

1 CIRAD UMR DAP, Avenue Agropolis, TA A96/03, 34398 Montpellier cedex 5. 2 CIRAD UMR-DAP, Laboratoire PIAF, Université Blaise Pascal, Bat BVR 24 avenue des landais, BP80026 63177 Aubière. 3 CIRAD, UR 31 BP 701 - 97387 Kourou Cedex Guyane Français. 4 CIRAD UMR DAP, Universidade Estadual de Santa Cruz - Laboratório de Biotecnologia e Genética - Rodovia Ilhéus-Itabuna, Km 16 - 45650-000 Ilhéus - Bahia - Brésil

Introduction

La Maladie Sud Américaine des feuilles (SALB, « South American Leaf Blight ») de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*), provoquée par le champignon Ascomycète *Microcyclus ulei*, est un frein majeur au développement de l'hévéaculture en Amérique latine. Sa propagation en Asie, qui concentre plus de 90% de la production mondiale de caoutchouc naturel, aurait des répercussions socio-économiques dramatiques. Un programme d'identification de gènes candidats associés à la résistance a été développé, par clonage différentiel couplé à la technique de macroarray, afin de révéler les gènes régulés suite à l'inoculation par *M. ulei*, en comparant le génotype sensible PB260 et le génotype tolérant RO38.



Sensible PB260



Tolérant RO38

Matériels et méthodes

Sondes: unigènes des banques A, B, E et F, amplifiés par PCR et fixés sur membranes de nylon à haute densité

Cibles: ADNc radio-marqués (P33) issus des cultivars sensible (PB260, inoculé ou non) et tolérant (RO38, inoculé ou non), à 24h et 48h post-inoculation (hpi)

Quantification des signaux d'hybridation à l'aide des programmes Storm Scanner Control (version5.03) et ImageQuant TL (Amersham Biosciences). Normalisation non paramétrique (Dawes and Glassey, 2007, Comp Funct Genom, ID 90578:12p) par rapport à un ensemble de gènes d'expression stable («Self-Consistent Set»). Clusters d'expression réalisés grâce aux programmes CLUSTER (Eisen et al. 1998, PNAS, 95:14863-14868) et TreeView.

Banque	«Tester »	« Driver »	Unigènes
A	PB260 inoculé	RO38 inoculé	938 (61%)
B	RO38 inoculé	PB260 inoculé	910 (59%)
E	RO38 inoculé	Tolérant témoin	853 (56%)
F	RO38 témoin	Tolérant inoculé	999 (65%)
total			4575

Discussion et perspectives

L'approche par clonage différentiel / macroarray a permis d'identifier 71 gènes candidats à 24 hpi et 323 à 48 hpi différenciellement exprimés entre les génotypes PB260 (sensible) et RO38 (tolérant). Onze sont communs aux deux temps dont 1 seul présentant un profil d'expression identique entre 24 et 48 h (UGA-1K18).

A 24h, 3 clusters majeurs ont été identifiés: près de la moitié des gènes candidats (31 sur 71) sont surexprimés ou stables chez pB260 et sous-exprimés chez RO38 (clusters I2 et I3); les autres clusters (I1, II et III) sont équilibrés (14, 13 et 13 gènes respectivement).

A 48h, 4 clusters majeurs ont été identifiés: la moitié des gènes candidats (175 sur 323) sont sous-exprimés chez PB260 avec un profil variable chez RO38 (cluster III); les autres clusters sont équilibrés (60, 41 et 47 gènes respectivement pour les clusters I, II et IV).

Parmi les gènes de fonction connue, la classe majoritaire est associée aux mécanismes de signalisation (32-36%). Quatorze gènes candidats sont impliqués dans les mécanismes de réponse au stress et de défense : 2 sont positionnés dans le cluster I (surexprimés chez PB260 et stables chez RO38) à 24 h et les 12 autres répartis dans les différents clusters à 48 h.

Les gènes candidats identifiés seront validés par q-PCR. Une sélection de gènes présentant un profil intéressant seront caractérisés pour leur polymorphisme génétique dans le cadre d'une étude de co-localisation avec des QTL de résistance sur 2 descendances .

Résultats

— Gènes communs

— Gènes de stress/défense

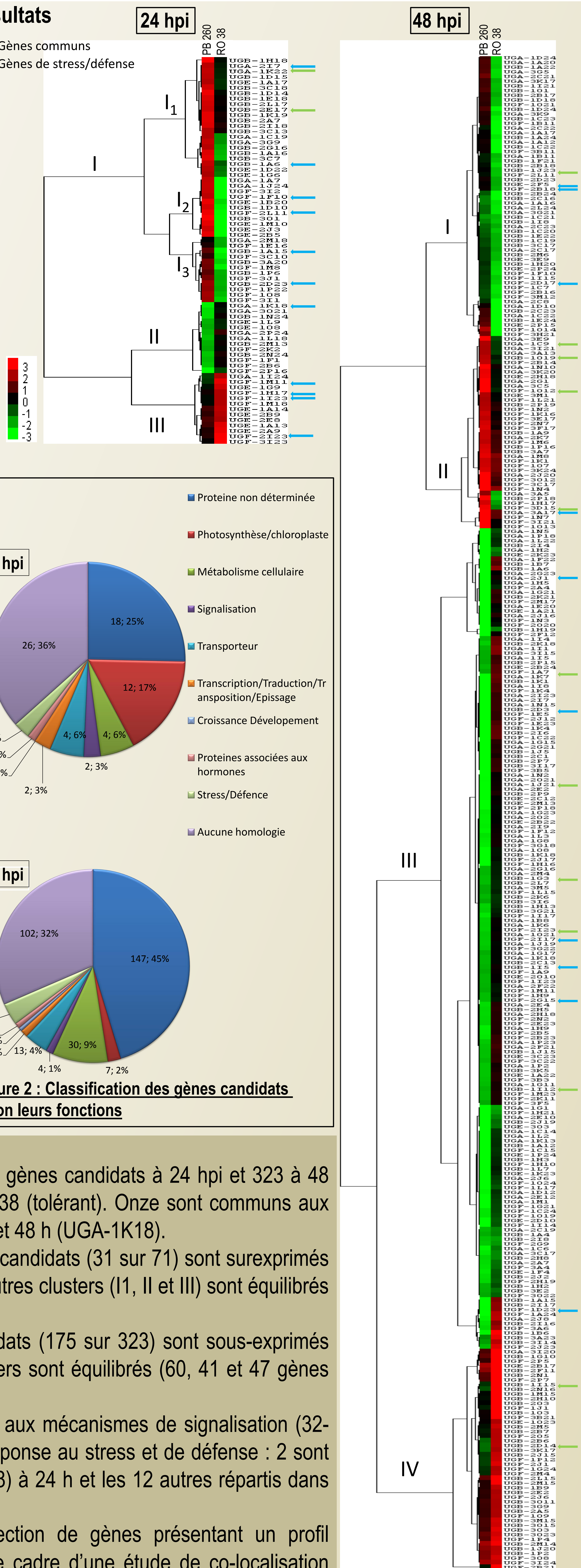


Figure 2 : Classification des gènes candidats selon leurs fonctions

Figure 1 : Classification hiérarchique des gènes candidats